第 33 卷 第 2 期
1990 年 5 月

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

Vol. 33, No. 2
May, 1990

取食不同寄主植物的棉铃虫对溴氰菊酯敏感性的变化*

谭维嘉　赵焕香
（中国农业科学院植物保护研究所，北京）

摘要　本文利用生物测定和生物化学的方法，就取食不同寄主植物的棉铃虫 *Heliothis armigera* (Hübner) 对溴氰菊酯敏感性及体内酶的活力变化进行了初步探索。结果表明，不同寄主植物具有诱发棉铃虫对药剂敏感性发生变化的可能性。羧酸酯酶是引起这种变化的重要因素之一，这种酶广泛分布于昆虫体内各组织中，以消化道内的活力为最高。专一性酶抑制剂的增效试验显示，TPP 与溴氰菊酯混配是溴氰菊酯单用时的 9 倍，证实羧酸酯酶是棉铃虫代谢溴氰菊酯杀虫剂的主要途径之一。

关键词　棉铃虫　溴氰菊酯　寄主植物　羧酸酯酶

以多种寄主植物为生的农业害虫，受不同寄主植物组织中某些物质的影响，对药剂敏感性反应发生变化这一现象，已受到广泛注意（Wood 等，1981; Berry 等，1980）。现已有报道，寄主植物中存在某种次生物质，它们可能具有诱导害虫对药剂敏感性发生变化的作用（Brattsten 等，1977; Yu 等，1979）。

棉铃虫 *Heliothis armigera* (Hübner) 是一种取食多种寄主植物的农业害虫。Gunning 等(1984) 报道澳大利亚棉铃虫在 1981—1983 年三年间对菊酯类杀虫剂产生 20—30 倍的抗性。我们从 1985 年开始对河南新乡地区棉铃虫进行监测，到目前为止，对溴氰菊酯和杀灭菊酯的抗性为 200—300 多倍。形成抗性如此迅速，除了药剂选择压的影响外，是否与取食不同寄主植物有关？本文利用生物测定和生物化学方法比较了取食不同寄主植物的棉铃虫对溴氰菊酯的敏感性及体内酶活力的变化；并以专一性酶抑制剂的增效作用判断棉铃虫体内酶代谢方式，初步探讨了这个问题。

材料与方法

一、虫源

1. 取用人工室内饲料饲养 39 代的棉铃虫初孵幼虫分别接到新鲜的寄主植物（番茄、扁豆角、棉蕾及人工饲料）中饲养至四龄（大约 10 天左右）。每头幼虫体重平均 51.5 mg。

2. 从新乡棉田采集田间第一代棉铃虫雌雄成虫各 20 对，在室内用糖水喂养，交配产卵后孵化的幼虫放在人工饲料中饲养至四龄，每头幼虫体重平均 51.5mg。

3. 取室内饲养39代棉铃虫雌成虫 20 头与田间第一代雄成虫 20 头交配，产卵孵化的幼虫放在人工饲料中饲养至三龄，每头幼虫体重平均 32.3mg。作为增效试验用虫。

本文于 1988 年 2 月收到。
* 在试验中，郭予元先生给予指导和大力支持，并审阅了本文，在此致谢。

二、供试药剂

溴氰菊酯(97%)原粉,磷酸三苯酯(Triphenyl phosphate, 简称 TPP),毒扁豆碱(eserine)及生化试剂均为法国优克拉夫公司提供。碘甲烷(ICH_3)为国产分析纯。

三、生物测定

取在不同饲料中饲养的四龄幼虫(增效试验取杂交后 F_1 代三龄幼虫,溴氰菊酯:酶抑制剂 = 9:1 有效成分比),将药剂配成 6—7 个浓度,用 LV-56 型电动微量点滴器吸取 1μl 药液,点滴在幼虫胸部背板上,每个浓度处理 8 头幼虫,重复 3 次。丙酮作对照。处理后分别置于人工饲料中饲养,24 小时后检查结果。将结果输入 PC-1500 计算机,按机率分析法计算出致死中量。

四、离体酶活力测定

1. 酶的制备:(1)取单头棉铃虫(55—57mg)和单头棉铃虫的脂肪体、消化道、头部和血淋巴,加重蒸馏水 1ml 匀浆,匀浆液在 3500 转/分下离心 10 分钟,上清液作为酶液.

2. 羧酸酯酶测定:参照 Aspere van (1962) 的方法。取 5×10^{-4}ml 的酶液、4×10^{-2}mol/L 的磷酸缓冲液(pH7)、3ml 4×10^{-4}mol/L 的 α-乙酸萘酚液、在 37℃ 水浴中保温 30 分钟,加显色剂 0.5 ml。在 751 型紫外分光光度计 600mμ 处比色。

3. 乙酰胆碱酯酶活力测定:参照 Ellman 等(1961)的方法。取 0.2ml 酶液、0.8 毫升 0.1mol/L 磷酸缓冲液(pH8)、0.05ml 碘化硫代乙酰胆碱液、0.1ml 0.01mol/L 的 5,5′-二硫代双-2-硝基苯甲酸液(DTNB),在 25℃ 水浴中保温15 分钟,加入 0.1ml 毒扁豆碱。在 751 型紫外分光光度计 410mμ 处测定光密度。

4. 谷胱甘肽 s- 转移酶活力测定:参照 Booth 等(1961)的方法。取 0.4ml 酶液、2.3 ml 0.1mol/L 磷酸缓冲液、0.07ml 谷胱甘肽液、0.05ml 0.1 mol/L 1-氯-2,4-二硝基苯液(CDNB),在 25℃ 水浴中反应 30 分钟,加热使其失活,在 751 型分光光度计 350mμ 处比色。

5. 蛋白质含量测定:参照 Lowry 等(1951)方法。

结 果

1. 取食不同寄主植物的棉铃虫对溴氰菊酯敏感性变化的结果见表1。在取食 5 种不同植物的棉铃虫中,以取食番茄的棉铃虫对溴氰菊酯的敏感性最高,LD_{50} 值为 0.28 μg/g,取食扁豆角、棉蕾、人工饲料的棉铃虫对溴氰菊酯的敏感性次之,LD_{50} 值分别是 0.30、2.76、4.85μg/g,取食一种未知寄主植物的棉铃虫对溴氰菊酯的敏感性较低、LD_{50} 值为 44.80μg/g。

2. 取食不同寄主植物的棉铃虫的羧酸酯酶活力比较见表 2。结果证明,取食不同寄主植物的棉铃虫体内羧酸酯酶的活力变化较大。取食 5 种不同寄主植物的棉铃虫的羧酸酯酶比活力分别为 0.9、1.0、1.9、4.0、5.9。新复极差测验,取食这 5 种不同寄主植物的棉铃虫之间羧酸酯酶活力变化差异显著。

3. 取食 5 种不同寄主植物的棉铃虫乙酰胆碱酯酶活力变化不大(见表 3),新复极差测验,差异不显著。

4.取食不同寄主植物的棉铃虫谷胱甘肽 s-转移酶活力比较结果见表 4。虽然取食这

表 1 取食不同寄主植物的棉铃虫对溴氰菊酯敏感性比较

寄主植物	回归式（Y=）	$LD_{50}(\mu g/g)$	比值	LD_{50} 置信限
番茄	4.2559 + 0.6454X	0.28	1	0.1153—0.6744
扁豆角	3.8502 + 0.9592X	0.30	1.09	0.1681—0.5601
棉蕾	3.4615 + 0.7146X	2.76	9.2	1.0149—3.1877
人工饲料	3.4897 + 0.6299X	4.85	17.57	1.2897—18.2658
未知寄主*	1.4455 + 1.1238X	44.80	162.3	14.0486—143.3441

* 为收集当年棉田 1 代成虫，在养虫室饲养产卵孵化的幼虫。

表 2 取食不同寄主植物的棉铃虫羧酸酯酶活力比较

寄主植物	比活力*	比 值	差异**
番茄	0.9±0.01	1	a A
扁豆角	1.0±0.03	1.1	ab A
棉蕾	1.9±0.05	2.1	b A
人工饲料	4.0±0.01	4.4	c B
未知寄主	5.9±0.06	6.6	d C

* 比活力系每 30 分钟每毫克蛋白质生成 α-萘酚的毫克分子数平均标准偏差（六次测定）。
** Ducan's 新复极差测验。

表 3 取食不同寄主植物的棉铃虫乙酰胆碱酯酶活力比较

寄主植物	比活力*	比 值	差 异
番茄	0.20±0.07	1	a
扁豆角	0.28±0.03	1.4	a
棉蕾	0.35±0.06	1.75	a
人工饲料	0.25±0.07	1.25	a
未知寄主	0.15±0.04	0.75	a

* 比活力系保温 15 分钟后 mmol/L 活力/mg 蛋白质（三次重复）。

表 4 取食不同寄主植物的棉铃虫谷胱甘肽 s-转移酶活力比较

寄主植物	比活力*	比 值	差 异
番茄	0.18±0.06	1	a A
人工饲料	0.24±0.04	1.3	bc B
棉蕾	0.28±0.02	1.5	cd C
扁豆角	0.31±0.04	1.7	d C
未知寄主	0.36±0.03	2	e D

* 比活力系保温 30 分钟后 OD 值/mg 蛋白质（三次）。

5 种寄主植物的棉铃虫谷胱甘肽 s-转移酶活力变化不大（比活力分别为 0.18、0.24、0.28、0.31、0.36），但经新复极差测验存在一定差异。

5. 棉铃虫不同组织中羧酸酯酶活力比较的结果列于表5。在 4 种组织中，以消化道中的羧酸酯酶的活力最高，脂肪体和头部次之，血淋巴中的羧酸酯酶的活力较低。新复极差

表 5 棉铃虫不同组织中羧酸酯酶活力比较

组织名称	比活力*	比 值	差 异
血淋巴	0.4±0.006	1	a A
头部	0.8±0.003	2	b A
脂肪体	10±0.001	25	c B
消化道	25±0.004	62.5	d C

* 同表 2。

测验差异极显著。

6. 专一性酶抑制剂对溴氰菊酯增效作用的比较结果见表 6。以溴氰菊酯为对照，溴氰菊酯与 TPP 混用后，增效作用较明显，t 检验表明，差异极显著。毒扁豆碱和碘甲烷的增效作用不明显。

表 6 专一性酶抑制剂对溴氰菊酯增效作用的比较

药 剂	回归式(y =)	LD_{50}(μg/g)	比 值	LD_{50} 置信限
溴氰菊酯	2.8525 + 0.7615X	20.4	1	3.5204—118.9550
溴氰菊酯+TPP	3.3841 + 0.8760X	2.16*	9.44	1.0299—4.5493
溴氰菊酯+毒扁豆碱	2.9144 + 0.8293X	10.12	2.03	2.7669—39.2834
溴氰菊酯+碘甲烷	2.9189 + 0.8120X	11.33	1.8	2.9109—44.0286

* 与溴氰菊酯相比较差异极显著 ($p<0.01$)。

讨 论

对于不同寄主植物诱导棉铃虫对药剂敏感性发生变化的研究目前国内外文献报道较少。从本试验的结果来看，取食不同寄主植物的棉铃虫对溴氰菊酯的敏感性是不同的。其敏感顺序：番茄≥扁豆角>棉蕾>人工饲料>未知寄主植物。取食番茄的棉铃虫对溴氰菊酯表现较敏感，而取食未知寄主植物的棉铃虫则对溴氰菊酯不敏感，两者相差 162 倍。说明寄主植物和棉铃虫对药剂敏感反应之间存在着一定关系。这种现象同 Yu(1982) 在 *Spodoptera frugiperda* 的实验中获得的结果相一致。Terriere (1984) 论述了多寄主植物的农业害虫在取食不同寄主植物后对药剂反应不同，指出寄主植物中可能存在某种物质，这种物质在不同的寄主植物中性质、含量可能不同，激活或抑制昆虫体内代谢活动 (Brattsten, 1979)。现已有文献报道，在番茄植物中，存在一种称作番茄苷的次生物质，对棉铃虫的生长发育均有影响(许纲和钦俊德，1987)。

三种解毒酶活力的测定提示了不同寄主植物和棉铃虫对药剂敏感反应变化的内在因素。在试验中，羧酸酯酶的活力变化较大，在这三种解毒酶活力变化中占较优势地位，其变化规律同上述敏感性变化相一致。可以认为，这种酶是寄主植物诱导棉铃虫对溴氰菊酯敏感性发生变化的重要因素之一，两者存在相关性。

专一性酶抑制剂的增效作用进一步证实了羧酸酯酶与棉铃虫对溴氰菊酯不敏感性之间的关系。TPP 与溴氰菊酯混用可以增效 9 倍，非常明显地说明羧酸酯酶在溴氰菊酯的

代谢中起到了重要作用。我们认为，棉铃虫在取食不同寄主植物后，由于植物中次生物质的影响，使体内解毒酶发生变化，使之对溴氰菊酯的敏感性发生变化。已有文献报道，羧酸酯酶是水解、代谢菊酯类杀虫剂的重要酶之一（Lien 和 John, 1974)。这种酶在棉铃虫的 4 种组织中（消化道、脂肪体、头部和血淋巴）均有分布，以消化道中的活力最高。Terriere (1983) 报道，取食多寄主植物的害虫，对药剂反应发生变化，可能是由于植物中的次生物质的影响，体内遗传物质发生改变，导致大量的蛋白酶的产生或抑制（Walker 和 Terriere, 1970)。寄主植物如何诱导棉铃虫体内酶发生变化，目前尚不清楚，有待继续探讨。

谷胱甘肽 s-转移酶的活力在取食不同寄主植物的棉铃虫中存在一定差异。有文献报道，此种酶也是一种可诱导酶（Ottea 和 Plapp, 1981)，但碘甲烷并没有表现增效作用。这种酶是否与棉铃虫对药剂敏感性变化有关，论据尚不十分充足。

乙酰胆碱酯酶的活力变化在取食不同寄主植物的棉铃虫中无差异，毒扁豆碱的增效作用变化不大，说明寄主植物中诱导剂的诱导作用与乙酰胆碱酯酶关系不大，这种酶可能不是棉铃虫代谢溴氰菊酯的重要酶。

综上所述，虽然我们还没有测定出引起棉铃虫对药剂敏感性发生变化的诱导物质和诱导机理，但从实验的结果中可以初步明确以下几点：

1. 不同寄主植物具有诱导棉铃虫对菊酯类杀虫剂敏感性发生变化的可能性。

2. 棉铃虫对寄主植物中诱导物质的刺激作用发生反应，产生生化防御能力。羧酸酯酶是寄主植物诱导棉铃虫自身防御的重要酶之一。

3. 专一性酶抑制剂增效作用表明，羧酸酯酶参与棉铃虫代谢溴氰菊酯，是关键的途径之一。

我们认为，在害虫综合防治中，寄主植物、害虫以及害虫对药剂敏感性之间的关系，是一个应予以重视的问题。

参　考　文　献

许纲、钦俊德　1987　实夜蛾属二近缘种对寄主植物次生物质的反应：次生物质对幼虫生长和食物利用的影响。昆虫学报 **30**(4): 359。

Aspere van, K. 1962 A study of housefly esterases by mean of a sensitive colormetric method. *J. Ins. Physiol.* **8**: 401.

Berry, R. E., Yu, S. J. & Terriere, L. C. 1980 Influence of host plants on insecticide metabolism and management of variegated cutworm. *J. Eco. Ento.* **73**: 771.

Booth, J. et al 1961 An enzyme from rat liver catalyzing conjugations with glutathione. *Biochem. J.* **79**: 516.

Brattsten, L. B., Wilkinson, C. F. & Eisner, T. 1977 Herbivore-plant interaction: mixed function oxidases and secondary plant substances. *Science* **196**: 1349.

Brattsten, L. B. 1979 Biochemical defense mechanisms in herbivores against plant allelochemicals. In: Herbivores, ed. G. A. Rosenthal, D. H. Janzen, pp 200—62. New York: Academic. 718pp.

Ellman, G. L., et al 1961 The new and rapid colorimetric determination of acetylcholineterase activity. *Biochem. Pharmacol* **7**: 88.

Gunning, R. V., et al 1984 Pyrethroid resistance in *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Austrulia. *J. Eco. Ento.* **77**: 1283.

Lien, T. J. & John, E. C. 1974 Insect pyrethroid hydrolyzing esterase. *Pestic. Biochem. Physiol.* **4**: 465.

Lowry, O. H. et al 1951 Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **198**: 265.

Ottea, J. A. & Plapp, F. W. Jr 1981 Induction of glutathione s-aryl transferase by phenobarbital in the housefly.

Pestic. Biochem. Physiol. **15**: 10.

Terriere, L. C. 1983 Enzyme induction, gene amplification and insect resistance to insecticides. In: Pest Resistance to Pesticides. ed. G. P. Georghiou, T. Saito, pp. 265—98. New York: Plenum, 825pp.

Terriere, L. C. 1984 Induction of detoxication enzymes in insects. *Ann. Rev. Entomol.* **29**: 71.

Wood, K. A., Wilsor, B. H., et al 1981 Influence of the host plant of susceptibility of the fall armyworm to insecticides. *J. Econ. Ento.* **74**: 96.

Walker, C. R. & Terriere, L. C. 1970 Induction of microsomal oxidases by dieldrin in *Musca domestica*. *Ent. Exp. Appl.* **13**: 260.

Yu, S. J., Berry, R. E. & Terriere, L. C. 1979 Host plant stimulation of detoxifying enzymes in a phytophagous *Pestic. Biochem. Physiol.* **12**: 280.

Yu, S. J. 1982 Induction of microsomal oxidases by host plant in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Pestic. Biochem. Physiol.* **17**: 59

CHANGES OF SENSITIVITY OF COTTON BOLLWORMS FEEDING ON DIFFERENT HOST PLANTS TO DECAMETHRIN

TAN WEI-JIA ZHAO HUAN-XIANG

(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing)

The sensitivity to decamethrin and relevant enzymic activities of the cotton bollworm *Heliothis armigera* (Hübner) feeding on different host plants were tested with bioassay and biochemical methods. The results showed that there was significant difference in the sensitivity to this insecticide among the bollworms from different sources, suggesting the relationship between host plant and insecticide resistance. One of the major factors causing the diversity seems to be the difference in the activity of carboxylase which is widely distributed in different tissues and reaches predomination in the mid-gut. In the synergic experiments with specific enzymic inhibitors, the toxic effect of TPP mixed with decamethrin was nine times greater than that of decamethrin used alone. This may aptly serve as a confirmative evidence for the carboxylase in the biochemical pathway to detoxifying decamethrin.

Key words *Heliothis armigera* (Hübner)——decamethrin——host plant——carboxylesterase